

文章编号:1005-6947(2005)07-0489-03

· 肝移植专题研究 ·

经升主动脉灌注的无心跳供体大鼠原位肝移植模型的建立

何建宏

(甘肃省酒泉市人民医院 普通外科, 甘肃 酒泉 735000)

摘要: **目的** 探讨建立一个能灌注更彻底、更易操作、热缺血时间容易控制的原位肝移植动物模型。 **方法** 在 Kamada 两袖套法的基础上进行改良, 供体经升主动脉进行冷灌注, 肝上下腔静脉用缝合合法吻合, 门静脉和肝下下腔静脉用袖套法吻合, 胆总管采用胆管内支架端端吻合的方法。建立无心跳供体的大鼠原位肝移植模型。 **结果** 40 例移植后 1 d 大鼠存活率为 95.0% (38/40), 1 周存活率为 85.5% (35/40)。 **结论** 经升主动脉灌注的供肝灌注更彻底、均匀, 更易操作, 热缺血时间控制更精准, 行肝移植后 1 周存活率较文献报道高。

关键词: 肝移植; 疾病模型, 动物; 移植物存活

中图分类号: R657.1; R363 **文献标识码:** A

A model of orthotopic liver transplantation with grafts harvested from non-heart-beating donors by perfusion through ascending aorta in rats

HE Jian-hong

(Department of General Surgery, The Jiuquan City Hospital, Jiuquan, Gansu 730000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the establishment of a rat model of orthotopic liver transplantation with more complete and easier performance of graft perfusion and easier control of warm ischemic time. **Methods** A modification of Kamada two-cuff method was used. Cold perfusion of donor livers was done through the ascending aorta. Suture anastomosis of suprahepatic vena cava was performed. Infrahepatic vena cava and portal vein anastomoses were done by the cuff technique. The bile duct was anastomosed with internal stent. The non-heart-beating donor (NHBD) graft model of orthotopic liver transplantation in rats was thus established. **Results** The survival rate of recipients grafted from NHBD with perfusion of ascending aorta was 95% (38/40) for 1 day and 85.5% (35/40) for 7 days. **Conclusions** The livers of NHBD as grafts harvested with perfusion through ascending aorta had more complete and homogeneous perfusion, perfusion was easier to perform and warm ischemia time was more accurately controlled. The one-week posttransplantation survival rate was longer than that reported in the literature.

Key words: Liver Transplantation; Disease Models, Animal; Graft Survival

CLC number: R657.1; R363 **Document code:** A

无心跳供体 (non-heart-beating donor, NHBD) 是指心跳停止, 经历一段热缺血的供体, 热缺血是指心跳停止到冷灌注开始的这段时间。NHBD 概念

的提出和临床应用, 为缓解供体异常短缺开辟了新的途径。本实验在 Kamada^[1] 两袖套法的基础上, 特别是在灌注的方法上进行改进, 将常规的经门静脉或腹主动脉灌注改为经升主动脉灌注, 建立了 NHBD 供体的大鼠原位肝移植 (OLT) 模型。旨在提供灌注更彻底、更易操作、热缺血时间容易控制的 OLT 模型。

收稿日期: 2004-10-06; 修订日期: 2005-01-22。

作者简介: 何建宏 (1967-), 男, 甘肃敦煌人, 甘肃省酒泉市人民医院主治医师, 硕士, 主要从事肝胆外科方面的研究。

通讯作者: 何建宏 电话: 13195978016 (手机); E-mail: gongaixia@163.com。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供受体均采用纯系、健康、雄性、清洁级 SD 大鼠(购自陕西省医学实验动物中心),体重 180 ~ 250 g。两者体重相当或受体略大于供体。麻醉药物为 95% 乙醚。吻合线为灭菌无损伤 9-0 双针缝线(购于宁波医用缝针厂)。自制门静脉(PV)和肝下腔静脉(IVC)塑料套管,PV 套管外径 2.0 mm, IVC 套管外径 2.5 mm,套管体部刻槽。自制胆管支架外径 0.7 mm,长度 < 5 mm。另备有医用双目显微镜(上海医用光学仪器厂),显微外科器械,福尔马林消毒熏箱。

1.2 方法

1.2.1 NHBD 供体模型制作 大鼠术前禁食不禁水 12 h,乙醚持续吸入麻醉后,动物仰卧于鼠台上,腰背部垫高,脱毛消毒,上腹部肋缘下横切口。显微镜下游离肝脏:剪断镰状韧带,分离并结扎左膈静脉,切断左三角韧带,结扎切断肝后食管静脉;游离出上下两片乳头叶;将肝脏推向右上方,仔细分离肝上下腔静脉(SVC)与腹后壁和膈肌之间组织。切断右三角韧带,游离右肾上腺静脉丛,结扎并剪断;游离 IVC 至左肾静脉上缘,分离右肾静脉,结扎并剪断。游离胆总管,楔形剪开胆总管前壁,向近端插入内支撑管,上端距肝管汇合处 0.5 mm,结扎固定并留单线备用,剪断远端备用;游离肝动脉,其下置线备用;游离门静脉,结扎幽门静脉并剪断,游离至门静脉与脾静脉汇合处为止。至此肝诸血管制备完毕。经阴茎背静脉注入肝素钠 1 250 U,使供体肝素化。剪开膈肌,大鼠仍有心跳,剪开两边侧肋,掀起胸腔,分离升主动脉并置线、打结备用;剪开左心室,插管入升主动脉,缝线固定插管;钳夹左心室使心跳停止,此时开始记时,20 min 后接输液器缓慢滴入 4℃ 乳酸钠林格液 20 ~ 40 mL 进行灌注,直至流出的灌注液变清亮为止;结扎肝动脉并剪断,切取肝脏保存于 4℃ 乳酸钠林格液中。

1.2.2 供肝袖套准备 修剪 PV 及 IVC 的多余组织,在长度允许的情况下尽量将幽门静脉和右肾静脉外翻于开口之外,以结扎的幽门静脉和右肾静脉

为参照方向将静脉壁翻转结扎于套管体部浅槽;修剪 SVC 边缘,留整齐的内外膜。用 4℃ 乳酸林格液冲洗 PV 和 IVC,置入 4℃ 冰箱冷保存备用。

1.2.3 受体手术 术前 20 min 肌内注射阿托品 0.03 mg。体位及麻醉同供体,取腹正中切口,自制拉钩拉开腹壁,游离肝脏同前;IVC 分离至右肾静脉水平;结扎肝动脉后门静脉游离至幽门静脉;静脉夹夹于右肾静脉上方阻断 IVC,于幽门静脉水平阻断 PV;在近肝门处穿刺 PV,注入 4 mL 平衡液驱肝血入体循环,Satinsky 钳连带约 0.8 cm 膈肌钳夹 SVC,将 Satinsky 钳向上翻起固定在自制的支架上;紧贴肝脏剪断 SVC,IVC,胆总管,去除受体肝脏,置入供肝;供肝冷保存约 15 min。9-0 无损伤双针缝线连续吻合 SVC;缝至最后 2 ~ 3 针,常温生理盐水冲洗 SVC 管腔,并用棉签挤压供肝以排除气泡。放血并冲洗受体 PV 腔后,将供肝带套管的 PV 套入受体 PV,用丝线结扎,开放 PV 及 SVC,结束无肝期。同法完成 IVC 袖套吻合。把胆管支架管的下段插入受体胆管内,结扎固定,将供受体结扎线拉拢打结。37℃ 生理盐水冲洗腹腔,单层连续缝合腹壁。术后给 10% 葡萄糖溶液 2 ~ 3 mL 饮用,3 h 内灯照复温,单笼饲养,12 h 给予少许饲料。

2 结果

共行大鼠原位肝移植术 40 次。实验中供体手术时间 25 ~ 35 min,平均 28 min。袖套准备及肝脏修整时间 4 ~ 7 min,平均 5 min。受体手术时间 40 ~ 55 min,平均 45 min。无肝期 14 ~ 23 min,平均 17 min。移植后大鼠 1 d 存活率 95.0% (38/40),1 周存活率 85.5% (35/40)。

3 讨论

本实验在文献^[2,3]报道的“两袖套”法基础上加以改进,主要是改经升主动脉灌注。以往报道^[2,3]肝移植模型均经 PV 灌注,也有经腹主动脉进行灌注者^[4]。改良后经升主动脉灌注具有以下优点:(1)灌注液经升主动脉、主动脉弓、胸主动脉、腹主动脉后,部分经肝动脉直接灌注肝脏,部分经各器官循环后进入 PV 灌注肝脏,因而肝脏得到

肝动脉、PV 双重灌注,并易保持 PV 压力适当。与传统的经门静脉灌注相比较,本法的肝脏灌注更彻底均匀,完全避免了经 PV 灌注时出现肝脏灌注不足,肝脏边缘得不到灌注这一弊端,确保获取一个质量良好的供肝。(2)升主动脉插管操作简单易行。剪开左心室进行插管,操作空间大,用软输液管进行插管,不会致血管壁损伤,稍经训练后成功率高,在裸眼下即可完成,无需借助显微镜;相反,PV 或腹主动脉插管须在显微镜下行穿刺,操作要求精准,稳定,必须经过长时间及大量的练习后方可完成。否则极易导致穿刺失败引起出血致供体死亡或缺血致供肝质量下降,穿刺锐性针头易造成血管壁的损伤,穿刺撕裂 PV 致 PV 过短使之后套管无法进行。(3)热缺血时间控制更精准。经 PV 或经腹主动脉进行灌注时,NHBD 热缺血时间的控制是从剪开胸腔,血管钳夹闭心脏基底部使心脏停跳开始记时,待预定热缺血时间完成后,穿刺 PV 或腹主动脉行灌注,灌注开始热缺血时间结束。此时 PV 或腹主动脉穿刺尤为关键,不仅要求精准,而且要快速完成,否则造成实际热缺血时间超过预定热缺血时间。而经升主动脉灌注则无此虞。剪开胸

腔到心脏停跳,一般可持续 60 ~ 90 s,其间可从容完成升主动脉插管,钳夹心脏基底致心跳停止后,准确记时,预定热缺血时间一旦完成,马上开始灌注,实际热缺血记时没有误差。(4)升主动脉插管和处死大鼠同步进行。(5)本实验大鼠肝移植 1 周存活率为(85.5%),与马毅^[4]报道的经腹主动脉灌注热缺血时间为 20 min 的大鼠肝移植 1 周存活率(75.0%)相比,本实验的 1 周存活率高($P < 0.05$)。

参考文献:

- [1] Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in rat: techniques using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage [J]. *Transplantation*, 1979, 28(1): 47-49.
- [2] 王轩,杨甲梅,严以群,等. 大鼠原位肝移植不同术式探讨[J]. *中华器官移植杂志*, 1998, 19(2): 76-77.
- [3] 孙君泓,吴孟超,曾琪华. 300 例大鼠原位肝移植[J]. *中华器官移植杂志*, 1990, 11(1): 19-21.
- [4] 马毅,何晓顺,陈规划,等. 不同热缺血时间对大鼠移植肝功能状态及存活期的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(4): 322-324.

欢迎订阅 2006 年《中国普通外科杂志》

《中国普通外科杂志》(ISSN 1005-6947/CN43-1213/R)由国家教育部主管,中南大学主办,中南大学湘雅医院承办。公开发行人。主编吕新生教授,顾问由中国科学院及工程院院士汤钊猷、吴孟超、吴咸中、郑树森、夏家辉、黄志强、裘法祖、黎介寿等十多位国内外著名普通外科专家担任,编委会由全国各地普外资深专家、学科带头人近 80 人组成。出版周期短,时效性强。以传播现代普外科的新理念、新技术、新方法,以及普通外科领域的理论、实践、基础研究和相关方面的最新进展为宗旨,以开展国内外学术交流,促进普通外科学科发展为己任,服务于普外临床、教学、科研工作者。

《中国普通外科杂志》为中国科技论文核心期刊,设有栏目为述评、专家论坛、专题研究、实验研究、临床研究、综述、简要论著、临床报道、病例报告、病例讨论等,目前本刊已进入多个国内外重要检索系统和数据库,如美国化学文摘(CA),俄罗斯文摘(AJ),中国科技论文与引文数据库,中国学术期刊综合评价数据库,中国期刊网全文数据库,中文科技期刊数据库,中文生物医学期刊文献数据库(CMCC),万方数据-数字化期刊群,中国生物医学期刊光盘版等。创刊 14 年,多次获奖,2004 年获全国高校优秀期刊,湖南省十佳科技期刊。

2006 年《中国普通外科杂志》,月刊,国际标准开本(A4),每期 80 页,每月 15 日出版。内芯采用进口亚光铜版纸印刷,封面美观大方。国内定价 9.50 元/册,全年 114 元。欢迎到全国各地邮局订购,邮发代号:42-121;编辑部可办理邮购。

编辑部地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号(湘雅医院内) 邮政编码:410008 电话(传真):0731-4327400
主页: <http://www.periodicals.net.cn> E-mail: zpwcncn@gmail.com jcgsxych@126.com